Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР «ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ»

ОНІЩЕНКО

Наталія Григорівна

**УДК 619:615:616.993.192.6:636.32/.38**

АНАПЛАЗМОЗНО-БАБЕЗІОЗНА ІНВАЗІЯ ОВЕЦЬ

В УМОВАХ КРИМУ

**16.00.11. – паразитологія, гельмінтологія**

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

Харків – 2006

**Дисертацією є рукопис.**

**Робота виконана в ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини».**

*Науковий керівник* **– доктор ветеринарних наук, професор, академік УААН** Малинін Олег Олексійович**, ННЦ «Інститут   
 експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
 заступник директора з наукової роботи.**

*Офіційні опоненти:*

**доктор ветеринарних наук** Приходько Юрій Олександрович,  
 **Харківська державна зооветеринарна академія,**

**завідувач кафедри паразитології**

**кандидат ветеринарних наук**

Євстаф’єва Валентина Олександрівна,

**Полтавська державна аграрна академія,**

**доцент кафедри паразитології**

*Провідна установа –* **Львівська національна академія ветеринарної  
 медицини ім. С.З. Гжицького Міністерства аграрної  
 політики України, кафедри: паразитології,  
 фармакології та токсикології, м. Львів.**

**Захист відбудеться “ \_18\_” жовтня\_ 2006 p. о “ \_12\_” годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за адресою 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.**

**З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» за адресою 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.**

**Автореферат розісланий “ \_31\_” \_серпня\_ 2006 p**

**Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради.  
доктор ветеринарних наук  
професор \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.Ф. Бабкін.**

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. **Крим традиційно є одним з головних вівчарських регіонів Україні. Це обумовлено як природнокліматичними, так і історичними особливостями півострова.**

В сучасних умовах, при різкому скороченні кількості підприємств державної форми власності, створюється чимало фермерських господарств. Так, за даними управління статистики в АР Крим за 2005 рік, вагова частина фермерських господарств становила 75% від загальної кількості вівчарських підприємств. У зв’язку з цим, стає зрозуміло, що виконання раніше розробленої системи заходів щодо профілактики кровопаразитарних захворювань, які передбачали використання протипротозойних препаратів до шести разів за сезон, є проблематичним та економічно необґрунтованим.

На території Кримського півострова домінує три види збудників кровопаразитарних захворювань: *Anaplasma ovis, Babesia ovis, Babesia motasi.* Змішану інвазію (*Anaplasma ovis + Babesia ovis + Babesia motas*i) вперше на території колишнього СРСР зареєстровано саме у Криму  
О.О. Марковим.

Розробці заходів профілактики та лікування кровопаразитарних захворювань, як окремих інвазій, присвячено праці багатьох вчених: лікуванням тварин хворих на бабезіоз займались І.І. Казанський, Д.К. Нечинений, А.І. Шмулевич,   
Л.П. Хитенкова, А.Г. Гафуров; хворих на анаплазмоз - Т.А. Мотрич, Л.П. Д’яконов, Н.А. Казаков, Л.П. Артеменко.

Питаннями, пов’язаними з розробкою лікувальних заходів при змішаній формі кровопаразитарних захворювань, ускладнених різною природою збудників, займалось досить мало дослідників. Першим, хто запропонував одночасне використання протипротозойних препаратів і тетрацикліну, був А.А. Агаєв.

Незважаючи на широке розповсюдження змішаної форми інвазії, до цього часу схеми профілактичних та лікувальних заходів при цій формі захворювання були відсутні. Проблеми кровопаразитарних захворювань (особливо змішаних форм) ускладнюються тим, що у зв’язку зі спробами поліпшити місцеву породу овець, на півострів завозиться племінна худоба, яка, при відсутності профілактичних заходів, в перший же рік важко хворіє на бабезіоз та анаплазмоз з високим відсотком падіжу.

Таким чином, розробка високоефективної, економічно обґрунтованої схеми профілактики та лікування змішаної форми анаплазмозно-бабезіозної інвазії, а також вивчення фармако-токсикологічних властивостей нових протипротозойних препаратів має теоретичні та практичні перспективи.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалась у лабораторії вивчення захворювань овець та кіз Кримської дослідної станції ІЕКВМ УААН завдання 09 „Розробити нові екологічно безпечні засоби захисту тварин від паразитарних захворювань”, завдання 09.03. „Дослідити біологічний цикл збудника гемоспоридіозів овець та розробити методи боротьби з ними в умовах АР Крим” (2001-2005 рр.). Номер державної реєстрації 0101U001607.

**Мета та задачі дослідження.** Робота виконувалась з метою розробки раціональних заходів лікування та профілактики змішаних форм кровопаразитарних інвазій овець та вдосконалення діагностики при цих захворюваннях, вивчення фармако-токсикологічних властивостей нового препарату з групи імідокарб дипропіонату – „Золг”. Досягнення поставленої мети вимагало вирішення наступних завдань:

* провести вивчення терапевтичної дії протипротозойних препаратів у комбінації з пролонгаторами у порівняльному аспекті;
* вдосконалити діагностику змішаних форм кровопаразитарних інвазій;
* **дослідити лікувально-профілактичну ефективність препарату „Золг” в експериментальних та виробничих умовах;**
* **визначити вплив препарату „Золг” на стійкість організму овець при повторному зараженні збудниками анаплазмозно-бабезіозної інвазії;**
* **провести токсикологічну оцінку препарату „Золг” на лабораторних тваринах та вівцях;**
* вивчити токсичність препарату „Золг” залежно від шляху введення.

***Об’єкт дослідження* – протипротозойні препарати, анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець.**

***Предмет дослідження* -** **профілактика та хіміотерапія овець хворих на анаплазмозно-бабезіозну інвазію, фармако-токсикологічна характеристика препарату „Золг”, кров тварин.**

***Методи досліджень* - роботу проводили з використанням загальновизнаних методів: гематологічних (вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів та лейкоцитів), біохімічних (активність лужної фосфатази, аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази), паразитологічних (фарбування мазків крові від хворих овець проводили за Романовським-Гімза та з використанням флуорохромів), токсикологічних (параметри гострої токсичності). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми «Microsoft Excel 2000», оцінку вірогідності (Р) визначали за показниками Т- критеріїв Ст’юдента.**

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше в Україні відтворено анаплазмозно-бабезіозну інвазію овець в експериментальних умовах. Запропоновано новий альтернативний метод діагностики кровопаразитарних захворювань з використанням люмінесцентної мікроскопії.

Проведено загальну токсикологічну оцінку протипротозойного препарату „Золг” та апробовано його профілактичну ефективність при експериментальному та спонтанному зараженні овець збудниками анаплазмозно-бабезіозної інвазії. Вивчено клініко-гематологічні та біохімічні показники крові овець при лікуванні препаратом „Золг”. Уперше в Україні розроблено нову ефективну схему хіміопрофілактики для захисту овець від збудників кровопаразитарних захворювань з використанням препарату „Золг”.

Наукова новизна підтверджена деклараційними патентами:

5195 UА Україна, МПК7 А61К39/00. Застосування препарату „Золг” як протипротозойного препарату” / Малинін О.О., **Оніщенко Н.Г**. – № 20040706210;

Деклараційний патент МПК7 А61В8/00. Спосіб експрес-діагностики кровопаразитарних захворювань овець з використанням люмінесцентної мікроскопії / **Оніщенко Н.Г.,** Волколупова В.А., Пасунькіна М.О.,Пінчук В.А. (КОС ИЭКВМ) - № 200507429; Заявл. 25.07.2005;

3612 UА Україна, МПК7 А61К39/10. Спосіб боротьби з іксодовими кліщами у овець / Іжболдіна М.О., **Оніщенко Н.Г.,** Волколупова В.А., Пінчук В.А. –  
 № 20031211581.

**Практичне значення отриманих даних.** Запропоновано для впровадження в умовах господарства ефективну схему профілактики та лікування анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець з використанням нового протипротозойного препарату, що дозволяє зменшити кількість обробок тварин та забезпечити тривалий захист від кровопаразитів. На основі отриманих даних розроблені методичні вказівки «По диагностике и методам борьбы с кровепаразитарными заболеваниями овец в АР Крым», які затверджені головою Державного департаменту ветеринарної медицини України (протокол № 4 від 23 грудня 2004 року ).

**Особистий внесок.** Автором самостійно проаналізовано та узагальнено увесь обсяг експериментальних досліджень, дані літератури та сформульовані наукові висновки. При цьому було розроблено експрес-діагностику кровопаразитарних захворювань з використанням люмінесцентної мікроскопії, проведено фармакологічну та токсикологічну оцінку препарату „Золг”, виконано дослідження клініко-гематологічних та біохімічних показників, вивчено профілактичну та лікувальну ефективність досліджуваних препаратів при кровопаразитарних захворюваннях, проведено статистичну обробку отриманих даних.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень доповідались на Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарна медицина – 2004: сучасні аспекти розробки, маркетингу і виробництва ветеринарних препаратів» 24 – 31 травня 2004 року, м. Феодосія, АР Крим;Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарна медицина – 2005: сучасний стан та актуальні проблеми забезпечення ветеринарного благополуччя тваринництва» 30 травня – 4 червня 2005 року, м. Ялта, АР Крим; та річних звітах ІЕКВМ у 2003-2006 рр.

**Публікації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 9 наукових статей у фахових виданнях, перелік яких затверджено ВАК України.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційну роботу викладено на 160 сторінках комп’ютерного друку. Вона містить вступ, огляд літератури за темою, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів експериментів, висновки, рекомендації виробництву, перелік використаних джерел і додатки. Роботу проілюстровано 33 таблицями та   
22 рисунками. Перелік використаної літератури налічує 307 джерел, у тому числі 195 іноземних.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Дослідження проводили впродовж 2002 - 2006 рр. в лабораторії вивчення хвороб овець та кіз Кримської дослідної станції ІЕКВМ УААН, вірусологічному відділі Кримської державної лабораторії ветеринарної медицини та в трьох вівчарських господарствах АР Крим.

В ході лабораторних дослідів використано 15 овець різного віку, 110 білих мишей, 15 кролів. В умовах господарства досліди проводили на 250 ягнятах. В приватному господарстві, при спалаху кровопаразитарної інвазії, препаратом “Золг” оброблено 1200 овець різного віку. Всього проведено 605 паразитологічних, 1836 гематологічних та 936 біохімічних досліджень**.**

**Схема проведення досліджень**

**Змішана форма анаплазмозно-бабезіозної інвазії -**

**розробка ефективної системи профілактики та лікування**

**Вивчення ефективності протипротозойних**

**препаратів у комбінації з пролонгаторами**

**Дослідити лікувально-профілактичну ефективність**

**препарату "Золг"**

**Удосконалення діагностики**

**змішаних форм**

**кровопаразитарних**

**інвазій**

**В умовах експерименту**

**В умовах**

**господарства**

**Визначення впливу**

**препарату**

**на тварин**

**Вивчення впливу**

**препарату "Золг" на стійкість овець до повторного зараження**

**на лабораторних тваринах та вівцях**

**залежно від шляху**

**введення**

Вивчення профілактичної та лікувальної ефективності протипротозойних препаратів з пролонгаторами та нового препарату "Золг" проводили в стаціонарно неблагополучних щодо змішаних кровопаразитарних інвазій господарствах. Стан піддослідних тварин вивчали за допомогою клінічних, гематологічних та паразитологічних методів досліджень до обробки препаратами та кожні 5-7 діб впродовж терміну спостереження. Підрахунок еритроцитів та лейкоцитів проводили в камері Горяєва, рівень гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом. При патологоанатомічному розтині тварин відмічали стан слизових та серозних оболонок, підшкірної клітковини, лімфовузлів, розмір селезінки, жовчного міхура, паренхіми печінки та нирок. З метою виявлення кровопаразитів досліджували мазки з периферійної крові (за методом Романовського-Гімза, а також при фарбуванні акридиновим помаранчевим з використанням люмінесцентної мікроскопії). Інтенсивність паразитемії встановлювали підрахунком уражених еритроцитів на   
100 полів зору мікроскопу.

Вивчення фармако-токсикологічних властивостей нового протипротозойного препарату „Золг” проводили в лабораторії вивчення хвороб овець та кіз Кримської дослідної станції на вівцях різного віку, білих мишах та кролях. У крові визначали вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів, активність ферментів крові (аланін -, аспартатамінотрансферази за методом Райтмана-Френкеля, лужної фосфатази (J. Kind).

Для відтворення в лабораторних умовах змішаної форми анаплазмозно-бабезіозної інвазії, з метою перевірки терапевтичних властивостей препарату “Золг”, проводили зараження піддослідних овець різного віку шляхом введення 5 см3 інвазованої крові, отриманої від хворих овець. За тваринами щодобово вели клінічне спостереження. Зразки крові від овець для дослідження відбирали до зараження, а також у наступні 60 діб на фоні розвитку захворювання.

Ступінь токсичності препарату „Золг” визначали на білих мишах за загальновизнаною методикою. Показники токсичних доз розраховували за методом найменших квадратів з використанням пробіт-аналізу.

Мазки крові досліджували на наявність кровопаразитів методом світлової та люмінесцентної мікроскопії після фарбування їх за методом Романовського-Гімза та акридиновим помаранчевим.

Статистичну обробку отриманих даних проводили на комп'ютері IBM PC з використанням програми Microsoft Excel for Windows 2000.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Вивчення ефективності протипротозойних препаратів у комбінації з пролонгаторами. **Проведені дослідження показали, що одноразове введення традиційних протипротозойних препаратів в рекомендованих дозах з пролонгаторами (пепсин, полівініловий спирт) не досить ефективно захищало тварин від змішаної форми анаплазмозно-бабезіозної інвазії. Так, при обробці 25 ягнят азидином з полівініловим спиртом захворіло 6 тварин, а вимушено забито з них 50%; азидином + пепсином – 5 тварин, з них в подальшому було вибракувано 40%; береніл гранулятом з аеросилом - 8 тварин, з них вимушено забито 50%, тоді як при обробці препаратом „оксі 100” захворіло лише 4 тварини та жодна з них не була вимушено забита (таблиця 1.)**

Таблиця 1.

**Профілактична ефективність протипротозойних препаратів у поєднанні з пролонгаторами при спонтанній інвазії**.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Препарати, що вводили | Кількість тварин в групі | Кількість тварин з клінічними ознаками хвороби | Кількість вибракуваних тварин |
| Азидин | 25 | 6 | 2 |
| Азидин + полівініловий спирт | 25 | 6 | 3 |
| Азидин + пепсин | 25 | 5 | 2 |
| Береніл гранулят + аеросил | 25 | 8 | 4 |
| Оксі-100 | 25 | 4 | - |
| Контроль | 25 | 9 | 3 |

**У тварин піддослідних груп, які оброблялись азидином, азидином з полівініловим спиртом, азидином з пепсином та береніл гранулятом з аеросилом, кількість еритроцитів в середньому зменшилась на 10%, а рівень гемоглобіну на 9,5%, тоді як рівень паразитемії був досить високим (120-145 паразитів на 100 полів зору), що також свідчить про недостатню ефективність досліджуваних комбінацій пролонгованих препаратів.**

**Дослідження терапевтичної активності препарату „Золг” в лабораторних умовах при штучному зараженні збудниками змішаної форми інвазії**.Перевірку терапевтичної активності препарату „Золг” проводили на вівцях штучно заражених кров’ю від тварин хворих на змішану форму анаплазмозно-бабезіозної інвазії.

Підвищення температури тіла та появу поодиноких паразитів *B. ovis* в крові заражених тварин було зафіксовано на третю-четверту добу від початку досліду. Після введення препарату „Золг” вівцям в дозі 0,002 г/кг паразити зникли з крові впродовж однієї доби. Поява поодиноких анаплазм в крові овець була зафіксована лише на 25 добу проведення досліду. Кількість паразитів в крові цих овець не перевищувала 10 паразитів на 100 полів зору мікроскопу. Кількість еритроцитів та лейкоцитів суттєво не змінювалась протягом всього досліду. Вміст гемоглобіну та активність аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази також суттєво не змінювались. В той же час заражена тварина, яку препаратом „Золг” не обробляли, перехворіла з типовою клінічною картиною змішаної форми анаплазмозно-бабезіозної інвазії.

Таким чином, використаний в досліді препарат „Золг” при введенні його вівцям у дозі 0,002 г/кг при перших клінічних ознаках кровопаразитарної інвазії призупиняє розвиток *B. ovis* та затримує появу в крові *A. ovis* протягом до 25 діб. Клінічні ознаки анаплазмозу в овець яких обробляли препаратом „Золг” не проявляються.

**Вивчення лікувально-профілактичної ефективності препарату „Золг” при змішаному перебігу анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець в умовах господарства.**

Дослід був проведений в умовах господарства АПК „Виноградний”. При цьому було сформовано 5 груп по 20 тварин у кожній. Тварин першої групи обробили препаратом „Золг” у дозі 0,002 г/кг внутрим’язево, другої – азидином у дозі 0,0035 г/кг підшкірно. Обробку тварин цих груп проводили під час масового нападу кліщів (10-20 екземплярів на тварині). Третя група тварин була оброблена препаратом „Золг” при перших проявах клінічної картини кровопаразитарних захворювань у овець в отарі. В той же час тварин четвертої групи обробляли азидином. Тварини п’ятої групи – контрольної, препаратами не оброблялись.

На момент обробки 30% тварин першої та другої груп мали підвищену температуру тіла, а в крові деяких овець виявлялися анаплазми та бабезії. Через дві доби після введення препарату „Золг” у ягнят першої групи *Babesia ovis* з крові зникли, а кількість *Anaplasma ovis* значно зменшилась. Протягом всього дослідження кількість паразитів в крові ягнят цієї групі не перевищувала їх кількості на початку досліду та клінічні ознаки захворювання були відсутні. Вимушений забій ягнят з цієї групи не проводили (таблиця 2).

У ягнят другої групи, які були оброблені азидином, під час масового нападу кліщів на тварин, захворювання мало перебіг з ознаками підгострої форми анаплазмозу. За тиждень після обробки у них з крові зникли *B.ovis*., але вже за два тижні після обробки знову з’явились у 30% тварин у вигляді поодиноких форм. В той час кількість анаплазм зростала незалежно від введення азидину. Максимальна паразитемія при цьому становила 65 паразитів на 100 полів зору. При дослідженні спостерігали зменшення кількості еритроцитів на 17,7%, рівню гемоглобіну на 13,5%. Активність АлАТ у тварин з клінічними ознаками інвазії зросла у 2,86 рази, а АсАТ – у 3,33 рази. Кількість вимушено забитих тварин з цієї групи становила 20% (таблиця 2).

Стан тварин третьої групи, оброблених препаратом „Золг” в період появи клінічних ознак захворювання у овець в отарі, був більш стабільний. Після введення препарату „Золг” вже за три доби бабезій в крові піддослідних ягнят не знаходили, а кількість анаплазм значно зменшилась. Так, перед обробкою середня кількість паразитів у овець по групі становила 33±4,3 на 100 полів зору мікроскопу. На момент закінчення досліду середня кількість паразитів у крові овець знизилась до 3,8±0,86 на 100 полів зору мікроскопу. Кількість еритроцитів та рівень гемоглобіну у овець після обробки мали тенденцію до збільшення. З цієї групи було вимушено забито 5% тварин (таблиця 2).

Ягнята четвертої групи, які були оброблені азидином у період появи клінічних ознак захворювання у овець в отарі, перехворіли на змішану форму анаплазмозно-бабезіозної інвазії досить важко. Не зважаючи на незначну стабілізацію гематологічних показників після введення препарату, кількість анаплазм в крові протягом всього дослідження залишалась досить високою (35 паразитів на 100 полів зору). З цієї групи було вимушено забито 25% ягнят (таблиця 2).

Тварини контрольної групи, які препаратами не оброблялись, перехворіли з типовими ознаками змішаної кровопаразитарної інвазії. З цієї групи було вимушено забито 35% тварин (таблиця 2)

Таблиця 2.

**Кількість вимушено забитих тварин по групах досліду**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група тварин | Вимушено  забиті тварини  (n=20) | Відхід у відсотках |
| Група І - вводили „Золг” під час нападу кліщів | 0 | 0% |
| Група ІІ - вводили азидин під час нападу кліщів | 4 | 20% |
| Група ІІІ - вводили „Золг” при появі клінічних ознак в отарі | 1 | 5% |
| Група IV - вводили азидин при появі клінічних ознак в отарі | 5 | 25% |
| Контроль - не обробляли | 7 | 35% |

Паралельно з проведенням цього досліду препаратом „Золг” було оброблено 1200 овець приватного фермерського господарства для припинення спалаху анаплазмозно-бабезіозної інвазії. До обробки середня паразитемія у цих овець становила 45 *Babesia ovis* та 5 *Anaplasma ovis* на 100 полів зору. Клінічні ознаки захворювання спостерігались у 10% тварин. На третю добу після обробки тварин препаратом „Золг”, вівці з клінічними ознаками в отарі були відсутні. Середня паразитемія у тварин зменшилась до 3 паразитів на 100 полів зору мікроскопу.

Вартість лікування овець при змішаному перебігу анаплазмозу та бабезіозу за традиційною схемою (азидин та оксі-100) складає 1,6 грн. на вівцю (одноразове введення азидину в дозі 0,0035 г/кг та дворазове введення оксі-100 з інтервалом 21 добу в дозі 0,15 мл/кг живої маси). При застосуванні препарату „Золг” достатньо одноразової обробки тварин у період масового нападу кліщів-переносників. Вартість однієї дози препарату „Золг” – 0,002 г/кг становить 0,6 грн. на вівцю. Тому обробка овець препаратом „Золг” у 2,6 рази дешевша за традиційне лікування змішаної форми інвазії.

**Вивчення впливу препарату „Золг” на стійкість організму овець до повторного зараження збудниками анаплазмозно-бабезіозної інвазії.**

Дослід проводили на тваринах, які за 13 місяців до цього перехворіли на змішану форму анаплазмозно-бабезіозної інвазії в легкій формі після одноразового лікування препаратом „Золг”. Тварин повторно заразили методом дворазового підшкірного введення цитратної крові (5 см3) одержаної від овець, хворих на змішану форму інвазії. В якості контролю використовували здорових тварин, які заражались вперше.

Вівці, які були заражені повторно, на введення кровопаразитів майже не реагували. Температура тіла у цих тварин не підвищувалась протягом всього терміну спостереження Але спостерігали незначне підвищення активності ферментів: АлАТ збільшилась на 32%, АсАТ - 34%. Рівень паразитемії не перевищував 14 анаплазм на 100 полів зору. Наявність бабезій в крові зафіксовано не було. Це свідчить про достатню стійкість овець до інвазії навіть при дворазовому введенні зараженої крові.

Протилежна реакція на зараження спостерігалась у тварин, які заражались вперше. Захворювання у цих тварин проходило у важкій формі з клінічними ознаками характерними для змішаної форми анаплазмозно-бабезіозної інвазії. Кількість еритроцитів в крові зменшилась на 38%, рівень гемоглобіну - на 10%; активність АлАТ збільшилась у 2,8 рази, а АсАТ – у 1,6 рази. У крові цих тварин з початку досліду виявляли бабезії у кількості до 10 паразитів на 100 полів зору. Після введення зараженої крові в тій же дозі, в крові піддослідних тварин з’явились анаплазми. Їх чисельність на 25 добу спостереження досягла 70 паразитів на 100 полів зору. Через 12 годин після проведеного вимушеного лікування тварин препаратом „Золг”, загальний стан їх значно поліпшився. Температура тіла нормалізувалась, а кількість паразитів зменшилась на 68%. На 45 добу досліду гематологічні показники нормалізувались, а паразитарна реакція не перевищувала 18 анаплазм на 100 полів зору.

Удосконалення діагностики кровопаразитів овець з використанням акридинового помаранчевого. **При масовому дослідженні мазків крові від хворих тварин необхідно диференціювати паразитів від різного роду включень та артефактів в еритроцитах.**

Для більш надійного виявлення та диференціації паразитів при змішаній формі інвазії нами запропоновано метод фарбування мазків крові флюорохромом - акридиновим помаранчевим. Це дає можливість диференціювати не тільки окремі види паразитів, але й відрізняти їх від різного роду включень в еритроцитах, що є особливо актуальним при діагностиці змішаних форм інвазій з нетиповим клінічним перебігом.

Встановлено, що *Anaplasma ovis* в препаратах крові хворих тварин після фарбування акридиновим помаранчевим світяться яскравим золотисто-зеленим світлом. Паразити виглядають крупнішими, ніж в препаратах, фарбованих за методом Романовським-Гімза. У *Babesia ovis* при фарбуванні впродовж 10-30 сек. ядро набувало зеленуватого кольору, а протоплазма - помаранчевого. Найбільша інтенсивність світіння паразитів спостерігалась при експозиції фарбування впродовж 5 хвилин. Після цього паразити рівномірно світяться яскравим золотисто–помаранчевим кольором. Лейкоцити могуть слугувати в якості контролю фарбування. При достатній експозиції вони набувають яскравого помаранчевого забарвлення, але відрізняються значними розмірами. Це дозволяє використовувати запропонований метод як альтернативну експрес-діагностику при кровопаразитарних захворюваннях.

Токсикологічна оцінка препарату „Золг” на білих мишах.

**Для визначення параметрів токсичності препарату „Золг” на мишах спочатку визначили орієнтовні дози препарату. Для цього „Золг” вводили мишам у дозах від одного до 500 мг/кг. Препарат у вищезазначених дозах вводили підшкірно в об’ємі 0,1 см3, розчин робили на воді для ін’єкцій. За результатами цього досліду був вибраний діапазон доз від 80 до 170 мг/кг маси тіла. Було сформовано 10 груп білих лабораторних мишей, аналогів за віком та живою масою. Свіжевиготовлений розчин препарату „Золг” вводили мишам підшкірно в об’ємі 0,1 см3. Мишам з контрольної групи вводили підшкірно 0,1 см3 води для ін’єкцій. За піддослідними тваринами проводили спостереження протягом 14 діб. Звертали увагу на поведінку, зовнішній вигляд, наявність апетиту, частоту дихання, час та кількість загиблих тварин в групах. Після загибелі проводили розтин мишей з метою виявлення патологоанатомічних змін. Параметри гострої токсичності розраховували за методом пробіт-аналізу. При цьому було встановлено, що при підшкірному введенні мишам препарату „Золг” LD16 його становить 84,1 мг/кг; LD50 - 125,0 мг/кг; LD84 - 165,8 мг/кг;LD100 - 186,3 мг/кг, при** **S\_LD 50 - 6,9. Тобто препарат відноситься до сполук середньої токсичності.**

**Токсичність препарату „Золг” для кролів залежно від способу введення.** Дослід проводився в умовах лабораторії на 15 кролях. Тварин розділили на дві піддослідні та одну контрольну групи. Кролям першої групи вводили препарат “Золг” підшкірно в дозі 10 мг/кг, що у п’ять разів перевищує терапевтичну при лікуванні кровопаразитарних захворювань. Тваринам другої групи вводили аналогічну кількість препарату внутрим’язево. Контрольних тварин препаратом не обробляли. Для оцінки ступеню токсичності препарату досліджували гематологічні та біохімічні показники крові за добу до обробки, через три години, одну, три, сім та чотирнадцять діб після введення препарату „Золг”. За результатами проведеного досліду можна зробити висновок, що при введенні препарату „Золг” кролям в дозі 10 мг/кг клінічні ознаки токсикозу відсутні як при підшкірному, так і при внутрим’язевому введенні. Досліджувані гематологічні та біохімічні показники при цьому залишаються у межах фізіологічних коливань та не відрізняються від контролю.

**Вивчення впливу збільшених доз препарату „Золг” на організм овець-паразитоносіїв.** Для вивчення впливу препарату „Золг” на організм овець при підшкірному введенні було сформовано групу з п’яти овець різного віку (3-5-річні тварини). Піддослідним тваринам підшкірно вводили свіжевиготовлений розчин препарату „Золг” в дозі, що п’ятикратно перевищує терапевтичну (10 мг/кг) у вигляді 5%-ного розчину на воді для ін’єкцій. Контрольним тваринам підшкірно вводили аналогічну кількість води для ін’єкцій. Кров досліджували за добу до обробки препаратом, а потім через три години, одну, три, сім та чотирнадцять діб після введення препарату. Результати проведеного досліду свідчать, що досліджувані показники весь час знаходились у межах норми та суттєвого їх коливання по відношенню до контролю не спостерігалось.

В мазках крові, отриманих від тварин до введення препарату, кількість паразитів становила 10-15 анаплазм на 100 полів зору мікроскопу. При проведенні дослідження мазків крові на 14 добу після обробки препаратом „Золг” паразитів знайшли в крові лише у 40% тварин, у кількості 5-7 анаплазм на 100 полів зору.

Через 50 діб провели повторне підшкірне введення препарату „Золг” в дозі   
10 мг/кг. Проведене через три доби після повторного введення препарату дослідження мазків крові з використанням звичайної світової та люмінесцентної мікроскопії показало відсутність паразитів в крові піддослідних тварин. Це дає змогу припустити, що дворазове введення препарату в дозі 10 мг/кг з інтервалом у 50 діб звільняє організм овець від кровопаразитів.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертації запропоновано альтернативний метод діагностики кровопаразитів за допомогою люмінесцентної мікроскопії мазків крові; визначена терапевтична ефективність протипротозойних препаратів з пролонгаторами, нового препарату „Золг”, його токсикологічна характеристика; обґрунтована система застосування препарату для профілактики та лікування овець при анаплазмозно-бабезіозній інвазії.
2. За результатами досліджень кровопаразитарних захворювань встановлено, що на території Кримського півострова в місцевостях розповсюдження кліща *Rhipicephalus bursa,* у овець визначається змішана форма анаплазмозно-бабезіозної інвазії. Клінічна картина захворювання залежить від того, який з паразитів потрапляє в організм першим, від ступеня вірулентності паразитів та стану самої тварини.
3. Встановлено, що комбінації протипротозойних препаратів: азидин в дозі 0,0035 г/кг та береніл-гранулят – 0,005 г/кг з пролонгаторами: пепсин та полівініловий спирт – 2% розчини та аеросил 2 г на тварину не дають стійкого профілактично-лікувального ефекту, особливо якщо переважає анаплазмозна інвазія. При перевазі у крові анаплазм (до 81%), найбільш ефективним серед загальноприйнятих засобів лікування протозойних інвазій є препарат оксі-100, який необхідно вводити дворазово з інтервалом у 21 добу в дозі 0,15 см3/кг живої маси.
4. Розроблено та запропоновано метод люмінесцентної мікроскопії мазків крові з використанням флуорохрому - акридинового помаранчевого для диференціації кровопаразитів, який підвищує достовірність та скорочує термін проведення діагностичних досліджень.
5. Препарат „Золг”, введений вівцям в дозі 0,002 г/кг з профілактичною метою у період масового нападу кліщів-переносників, призводить до легкого перебігу анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець з затримкою появи анаплазм в крові до 25 діб.
6. Препарат „Золг” за показниками токсичності відноситься до середньотоксичних речовин. При підшкірному введенні білим мишам LD16 його становить 84,1 мг/кг; LD50 -125,0 мг/кг; LD84 -165,8 мг/кг;LD100 -186,3 мг/кг. Таким чином, LD50 препарату „Золг” у 62 рази перевищує рекомендовану терапевтичну дозу – 2,0 мг/кг.
7. Препарат „Золг”, при введенні вівцям або кролям підшкірно чи внутрим’язево в дозі 10,0 мг/кг (що в п’ять разів більше за терапевтичну), не викликає клінічних ознак токсикозу та суттєвих змін з боку кількості еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази, які залишаються у межах фізіологічних коливань.

**ПРОПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПРАКТИКИ**

1. Результати досліджень увійшли до методичних вказівок «По диагностике и методам борьбы с кровепаразитарными заболеваниями овец в АР Крым», затверджених головою Державного департаменту ветеринарної медицини України (протокол № 4 від 23 грудня 2004 року).
2. Для диференціації змішаних форм кровопаразитарних інвазій в овець рекомендується застосовувати альтернативний метод експрес-діагностики з використанням люмінесцентної мікроскопії.
3. Для лікування і профілактики кровопаразитарних інвазій овець (*Anaplasma ovis* та *Babesia ovis*)при перших клінічних ознаках захворювання в отарі рекомендовано використовуваннянового протипротозойного препарату - “Золг” в дозі 0,002 г/кг підшкірно або внутрим’язево у вигляді 5% розчину на воді для ін’єкцій.

# ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Оніщенко Н.Г.** Вивчення терапевтичної активності препарату „Золг” при змішаному перебігу анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець. // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий науковий збірник. – Вип. 84. – Харків. – 2004. – С. 544-547
2. **Оніщенко Н.Г.** Люмінесцентна мікроскопія гемоспоридій в мазках крові овець з використанням акридинового помаранчевого. // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий науковий збірник. – Вип. 85. – Харків. – 2005. – С.861 - 863.
3. **Оніщенко Н.Г.,** Волколупова В.А. Пролонгація дії хіміотерапевтичних препаратів при змішаному перебігу анаплазмозної та бабезіозної інвазій // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий науковий збірник. – Вип. 83. – Харків. – 2003. – С. 170-174.

*Дисертант безпосередньо провела увесь комплекс лабораторних досліджень та узагальнення даних.*

1. **Оніщенко Н.Г.,** Волколупова В.А. Терапевтична дія ряду протипротозойних препаратів при змішаному перебігу анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець. // Наукові праці Кримського державного агротехнологічного університету. - Актуальні проблеми ветеринарної медицини. Вип. 85. – Сімферополь .- 2004. – С. 150-156.

*Дисертант провела дослідження, аналіз отриманих даних та написання статті.*

1. Волколупова В.А., Пинчук В.А., **Онищенко Н.Г.,** Ижболдина М.А. Гемоспоридиозно-клещевая ситуация и совершенствование мер борьбы с кровопаразитарными инвазиями овец в Крыму. // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий науковий збірник. – Вип. 85. – Харків. – 2005. – С.229 -233.
2. Волколупова В.А., Пінчук В.А., Пасунькіна М.О., **Оніщенко Н.Г.**

Вивчення біології кліща *Rhipicephalus bursa* і розробка заходів боротьби з кровопаразитарними хворобами овець у Криму. // Ветеринарна медицина України - № 5. – 2006. – С. 18-20

*Дисертант провела досліди з вивченя ефективності протипротозойних препаратів, безпосередньо розробляла методику фарбування мазків акридиновим помаранчевим.*

1. Деклараційний патент 5195 UА Україна, МПК7 А61К39/00. Застосування препарату „Золг” як протипротозойного препарату /   
   Малинін О.О., **Оніщенко Н.Г.** - № 20040706210; Заявл. 26.07.2004; Опубл. 15.02.2005, Бюл. № 2.
2. Деклараційний патент МПК7 А61В8/00. Спосіб експрес-діагностики кровопаразитарних захворювань овець з використанням люмінесцентної мікроскопії / **Оніщенко Н.Г.,** Волколупова В.А., Пасунькіна М.О., Пінчук В.А. (КОС ІЕКВМ) - № 200507429; Заявл. 25.07.2005;
3. Деклараційний патент 3612 UА Україна, МПК7 А61К39/10. Спосіб боротьби з іксодовими кліщами у овець / Іжболдіна М.О., **Оніщенко Н.Г.,** Волколупова В.А., Пінчук В.А. (КОС ІЕКВМ) - № 20031211581; Заявл. 15.12.2003; Опубл. 15.12.2004, Бюл. №12.

Оніщенко Н.Г. Анаплазмозно-бабезіозна інвазія овець в умовах Криму - Рукопис.

**Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.11. – паразитологія, гельминтологія. Національній науковий центр „Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини”, Харків, 2006.**

Вивчено ефективність комбінацій протипротозойних препаратів з пролонгаторами при змішаній формі анаплазмозно-бабезіозної інвазії овець в Криму. Встановлено, що в випадку анаплазмозної інвазії найбільш ефективним є препарат „оксі-100” при дворазовому введенні з інтервалом 21 добу в дозі   
0,15 см3/кг живої маси.

Запропоновано метод експрес-діагностики змішаних форм кровопаразитарних інвазій за допомогою люмінесцентної мікроскопії.

Досліджено профілактичні та лікувальні властивості нового протипротозойного препарату “Золг” при змішаному перебігу анаплазмозу та бабезіозу. Введення даного препарату в дозі 0,002 г/кг підшкірно або внутрим’язево під час масового нападу кліщів-переносників запобігає розвитку бабезіозу та затримує появу у крові анаплазм на 22 доби, що призводить до легкого перебігу захворювання. Препарат “Золг” відноситься до речовин середньої токсичності, LD50 його складає 125 мг/кг, що у 62 рази більше терапевтичної дози – 2,0 мг/кг. Встановлено, що підшкірне або внутрим’язеве введення препарату в дозі, що в п’ять разів більша за терапевтичну (10 мг/кг), не викликає клінічних ознак токсикозу та не призводить до змін з боку вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів та лейкоцитів, активності АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази. Дворазове введення препарату „Золг” вівцям в дозі 10 мг/кг з інтервалом 50 діб звільняє організм від анаплазм.

Ключові слова: анаплазмозно-бабезіозна інвазія овець, люмінесцентна мікроскопія, протипротозойні препарати, препарат „Золг”.

Онищенко Н.Г. Анаплазмозно-бабезиозная инвазия овец в условиях Крыма – Рукопись.

**Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.11.- паразитология, гельминтология. Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», Харьков, 2006.**

**Изучена эффективность комбинации противопротозойных препаратов (азидин и беренил гранулят) с пролонгаторами (пепсин, поливиниловый спирт) при смешанной форме анаплазмоза и бабезиоза овец в Крыму. Установлено, что в случае преобладания анаплазмозной инвазии наиболее эффективным является препарат «окси-100», применяемый двукратно с интервалом 21 день в дозе   
0,15 см3/кг.**

**Предложен метод экспресс диагностики смешанных форм кровопаразитарных инвазий с помощью люминесцентной микроскопии.**

**Исследованы профилактические и лечебные свойства нового противопротозойного препарата «Золг» при анаплазмозно-бабезиозной инвазии овец. Введение данного препарата в рекомендуемой терапевтической дозе 0,002 г/кг подкожно или внутримышечно при первых клинических признаках заболевания в отаре предотвращает развитие бабезиоза и задерживает появление анаплазм в крови зараженных овец до 25 суток. Применение препарата позволяет минимизировать экономические потери при смешанном течении заболевания, а животным приобрести устойчивость к последующему возможному заражению кровопаразитами.**

**Препарат «Золг» относится к веществам средней токсичности, LD50 его составляет125,0 мг/кг, что в 62 раза превышает рекомендованную терапевтическую дозу – 2,0 мг/кг. Изучено влияние на организм здоровых животных (кролики и овцы) пятикратных лечебных доз препарата «Золг». Установлено, что подкожное и внутримышечное введение препарата «Золг» в дозе 10 мг/кг (что в пять раз больше чем терапевтическая доза) не вызывает клинических признаков токсикоза, а также существенных изменений со стороны уровня гемоглобина количества эритроцитов и лейкоцитов, активности АлАТ, АсАТ и щелочной фосфатазы. Двукратное введении препарата овцам в дозе 10 мг/кг с интервалом 50 дней освобождает организм от анаплазм.**

**Ключевые слова: анаплазмозно-бабезиозная инвазия овец, люминесцентная микроскопия, противопротозойные препараты, препарат «Золг».**

Onischenko. N. Anaplasma ovis and Babesia ovis invasion of sheep in Crimea - Manuscript.

**The dissertation for achievement of the academic degree of Candidate of Veterinary Science, speciality 16.00.11. – parasitological, helminthological. National scientific centre „Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkov, 2006.**

Efficiency of combinations of anti-babesial drugs with several prolongation substances was tested on the mixed form of Anaplasma ovis and Babesia ovis invasion of sheep in the Crimea. It is determined, that in case of Anaplasma ovis invasion the most effective medicine is oxy-100 in case of double administration with the interval of 21 day at the dose of 0,15 сm3 per kg of body weight.

Method of express-diagnostics of mixed forms of blood parasitic invasions by luminescent microscopy is proposed.

The prophylactic and medical properties of the new anti-babesial drugs “Solgum” was studied in the case of the mixed Anaplasma and Babesia ovis. Subcutaneous or intramuscular administration of this drugs at the dose of 0,002 g per kg of body weight during the massive attack of ticks-carriers prevents development of Babesia ovis and inhibits appearance of Anaplasma ovis in blood for 22 days, that results in the mild course of disease. The “Solgum” preparation belongs to the matters of medium toxicity, LD50 is 125 mg per kg body weight, that is 62 times more then therapeutic dose – 2,0 mg per kg body weight. It is determined, that subcutaneous or intramuscular administration of preparation at the dose, that is five times larger then therapeutic (10 mg/kg) does not cause clinical signs of toxicosis and does not result the changes of haematological indexes, activity by serum alaninaminotransferase and aspartateaminotransferase. Double administration of preparation to sheep at the dose of 10 mg per kg body weight with interval of 50 days clears organism from Anaplasma ovis.

**Keywords: Anaplasma ovis and Babesia ovis invasion of sheep, luminescent microscopy, anti-babesial drugs, „Solgum” medicine.**

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>